



Artículo de revisión

ANTIOXIDANTES HISTORIA Y EVOLUCIÓN

Emilce Rivarola de Gutierrez*, Susana Elsa Salomón*

* Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo.

Correo electrónico de contacto: sesalomon@yahoo.com

Como parte de su adaptación desde la vida marina, las plantas terrestres comenzaron a producir antioxidantes no marinos como el ácido ascórbico, polifenoles y tocoferoles. El desarrollo posterior de las plantas angiospérmicas entre 50 y 200 millones de años atrás, particularmente durante el período Jurásico, producían muchos pigmentos antioxidantes, que evolucionaron durante su etapa tardía como defensas químicas contra las especies reactivas de oxígeno durante la fotosíntesis.^{1 2}

Definición de antioxidantes: cualquier sustancia que reduce el daño oxidativo (daño debido al oxígeno) como el causado por los radicales libres. Estos son químicos altamente reactivos que atacan moléculas capturando electrones y por lo tanto modifican estructuras químicas. Los antioxidantes más conocidos incluyen un número de enzimas y otras sustancias como la vitamina C, la vitamina E y betacaroteno –que se convierte en vitamina A. Estos son capaces de contrarrestar los efectos dañinos de la oxidación. Además a los productos alimenticios se les agrega antioxidantes, como a los aceites vegetales y a los productos preparados para prevenir o demorar su deterioro por acción del aire. Los antioxidantes pueden posiblemente reducir el riesgo de cáncer y de degeneración macular relacionada con la edad.³

En la actualidad se considera que existen dos tipos mayores de antioxidantes.

- Antioxidantes hidrosolubles: se los refiere como antioxidantes hidrofílicos. Básicamente son capaces de asistir en los procesos citoplásmicos y colaborar en el plasma liberándolo de radicales libres. Los más comunes son el ácido ascórbico, el glutatión lipoico y el ácido úrico. Como se nota la mayoría de ellos son ácidos. Su concentración sérica y hepática varía en rango extenso. Estos antioxidantes están presentes en los alimentos.
- Antioxidantes liposolubles: a diferencia de los hidrosolubles los antioxidantes liposolubles no emergen activamente buscando destruir células alteradas, estos tienen un rol más pasivo en el mantenimiento de la salud. Básicamente

trabajan adhiriéndose a las células dañadas, aportando reacciones que sostienen el bienestar y la salud de esa célula en particular. Esto equivale a decir que trabajan a nivel celular. Algunos de estos son los carotenos y el ubiquinol. También se los encuentra en los alimentos, especialmente en las frutas.⁴

El término antioxidante originalmente se utilizó para referirse específicamente a químicos que previenen la unión al oxígeno. En la etapa final del siglo IXX y en los inicios del siglo XX, se realizaron extensos estudios vinculados al uso de antioxidantes en los procesos industriales, tales la prevención de la corrosión de los metales, la vulcanización de la goma, la polimeración de los derivados del petróleo y el ensuciamiento de la maquinarias de combustión interna.

Posteriormente se pasó de los metales a la industria de la alimentación y de allí a las células.

Las primeras investigaciones del papel de los antioxidantes en biología se enfocaron en el uso para prevenir la oxidación de grasas no saturadas dado que esto es motivo de ranciedad.⁵

La actividad antioxidante se pudo medir de un modo simple, dejando la grasa en un contenedor cerrado con oxígeno y determinando el rango del consumo del mismo. De todas maneras fue la identificación de las vitaminas A, C y E como antioxidantes lo que revolucionó el campo y condujo a la comprobación de la importancia de los antioxidantes en la bioquímica de los organismos vivos.^{6,7}

Los posibles mecanismos de acción se exploraron primariamente cuando se reconoció que una sustancia con actividad antioxidante puede ser aquella que se oxide a sí misma.⁸ Las investigaciones sobre cómo la vitamina E previene el proceso de la peroxidación lipídica llevó a la identificación de los antioxidantes como agentes

reductores que previenen las reacciones oxidativas, frecuentemente barriendo las especies reactivas de oxígeno antes de que puedan dañar a las células.⁹

Con respecto a la historia de la aplicación médica de los antioxidantes, ésta empieza en sumer, civilización en la que se registra la primera farmacopea.

Desde la época de los sumerios, finales del tercer milenio A.C., data el primer documento referido a productos naturales medicamentosos.

Un médico sumerio, hacia el final de ese milenio, preparó una tablilla de arcilla húmeda de cerca de 16 cm de largo por 9,5 cm de ancho, talló en forma de cuña la extremidad de un estilete de caña e inscribió, con los caracteres cuneiformes de su época, los nombres de una docena de sus remedios favoritos. Este escrito de arcilla, el «manual» de medicina más antiguo que se conozca, yacía enterrado entre las ruinas de Nippur desde hacían más de cuatro mil años, cuando fue descubierto por una expedición arqueológica y entregado al Museo de la Universidad de Filadelfia.

Este documento demuestra que para componer sus medicamentos, el médico sumerio, igual que su colega moderno, recurría al uso de sustancias vegetales, animales y minerales. Sus minerales favoritos eran el cloruro sódico (sal común) y el nitrato potásico (salitre). En cuanto a productos animales, utilizaba, por ejemplo, la leche, la piel de serpiente, la concha de tortuga. Pero la mayoría de sus remedios, eran entresacados del reino vegetal: plantas como la casia, el mirto, el asafétida y el tomillo; árboles como el sauce, el peral, el abeto, la higuera y la palmera de dátiles. Estos eran simples y se preparaban a partir del grano, del fruto, de la raíz, de la rama, de la corteza o de la goma de los vegetales en cuestión, y debían conservarse, igual que hoy en día, en forma sólida, o sea, en polvo.

Los remedios comprendían también los ungüentos y los “filtrados” para el uso externo, y los líquidos para uso interno. Con objeto de extraer los principios deseados, el médico hacía hervir la sustancia dentro del agua y añadía un álcali y

sales diversas, sin duda con la intención de obtener una mayor cantidad de extracto. Se empleaba entonces un vehículo para facilitar al paciente la absorción de los remedios. Este vehículo era, generalmente, la cerveza. Por lo tanto, se hacía disolver en la cerveza los ingredientes reducidos al estado de polvo, antes de hacérselos beber a los enfermos.

Nuestra tablilla, revela de un modo indirecto que los sumerios poseían profundos conocimientos en materia química. Se puede comprobar, por ejemplo, que ciertas instrucciones de nuestro médico recomiendan “purificar” los ingredientes antes de pulverizarlos, tratamiento que debía requerir diversas operaciones químicas. En otras preparaciones vemos utilizar como ingredientes el álcali en polvo; se trata, probablemente, de *ceniza* alcalina obtenida por combustión, en un hoyo, de una cualquiera de las numerosas plantas de la familia de las quenopodiáceas (muy probablemente la *Salicornia fruticosa*) que son muy ricas en sosa.

La ceniza sodada así producida era utilizada (cosa que sabemos por otros documentos) en el siglo VII A. C. Resultan interesantes desde el punto de vista químico las indicaciones que prescriben el uso del álcali y añaden ciertas sustancias que contienen una gran proporción de cuerpos grasos naturales, lo que permitiría obtener un jabón para aplicaciones externas.

Es interesante observar que nuestro médico sumerio no recurre ni a las fórmulas mágicas ni a los hechizos. No menciona a ningún dios ni a ningún demonio en su texto aunque esto se desprende del contenido de unas setenta tablillas pequeñas cubiertas de encantamientos designados como tales por los mismos autores de las inscripciones. Igual que hicieron los babilonios, más tarde, los sumerios atribuían la existencia de muchísimas enfermedades a la presencia de demonios muy malintencionados, que se habían metido dentro del cuerpo de los enfermos. Media docena de estos demonios son nombrados expresamente en un himno sumerio

dedicado al “Gran Médico de la gente de la cabeza negra”, a la diosa Bau, llamada también por los nombres de Ninisinna y de Gula. No deja de ser, por consiguiente, notable que nuestro pedazo de arcilla, la “página” más antigua de texto médico y de farmacopea conocida hasta la fecha, se nos muestre completamente exenta de elementos místicos e irracionales.¹⁰

Avanzando en la línea del tiempo nos encontramos con que los turméricos especialmente la *Curcuma longa*, planta herbácea perenne rizomatosa de la familia de las zingiberáceas, con aplicaciones culinarias como especia y colorante, han sido usados históricamente como componentes de la medicina Ayurvédica de la India desde 1900 años AC para tratar una amplia variedad de afecciones. Las investigaciones de finales del siglo XX han identificado a la curcumina como la responsable de la mayor parte de la actividad biológica de los turmeros.¹¹ La curcumina incorpora varios grupos funcionales. Los sistemas de anillos aromáticos, que son polifenoles están conectados por dos grupos carbonilos α , β -insaturados. Los dos grupos carbonilos forman una dicetona. Las dicetonas forman enoles estables o son deprotonadas fácilmente y forman enolatos, mientras que el carbonilo α , β -insaturados deviene en adición nucleofílica. La estructura fue identificada en 1910 por Kazimierz Kostanecki, J. Miłobędzka y Wiktor Lampe.

Estudios *in vitro* y en animales han sugerido un amplio rango de potencial terapéutico o de efectos preventivos asociados a la curcumina. Al presente estos efectos no han sido confirmados en humanos. De todos modos, desde alrededor del 2008 numerosos ensayos clínicos en humanos están estudiando los efectos de la curcumina en varias enfermedades incluyendo al mieloma múltiple, el cáncer de páncreas, síndromes mielo displásicos, cáncer de colon, psoriasis y enfermedad de Alzheimer.¹² Se ha demostrado que la curcumina suprime significativamente la expresión de ROS (especies reactivas de oxígeno) intracelulares y moléculas de

adhesión, la degradación de Ikappa Balpha y la translocación de NFkappaB, mientras se induce la producción de NO (óxido nítrico) por fosforilación de eNOS. Como conclusión la curcumina puede modular la composición de lipoproteína y atenuar el stress oxidativo elevando el proceso antioxidante.¹³

Otras especias utilizadas para la preparación de alimentos están siendo investigadas en sus efectos antioxidantes. Entre ellos el orégano. Su capacidad antioxidante fue confirmada desde sus propiedades para captar ROS, inhibir la peroxidación lipídica y suprimir las ROS en células *BNLCL2* inducidas con *H2O2*. *La inhibición de la tirosinasa y de la actividad de la DOPA oxidasa y de la producción de melanina fue posible en relación con la subregulación del receptor de melanocortina-1, y a la expresión de la tirosinasa y proteínas relacionadas en células B16. Esto señala al ácido protocatechuico-extraído del orégano como un extintor efectivo de atacantes oxidativos con propiedades antimelanogénesis.*¹⁴

En la actualidad se están indagando numerosos antioxidantes presentes en los vegetales. Entre ellos por ejemplo se ha investigado la acción del extracto de Ginkgo biloba (EGb761) en la homeostasis en el cultivo celular de queratinocito humano.¹⁵ Se incubaron las células con EGb 761 y esto resultó en un incremento de glutatión intracelular dosis dependiente y se demostró aumento de la gamma- glutamil sintetiza y su mRNA, fenómeno que también se ha visto en otras líneas celulares como las del hígado y vejiga humana, por lo que se deduce que este efecto podría ser ubicuo en las células de los mamíferos.

Entre otros antioxidantes pesquisados se encuentran los de las frutas. Se ha visto que las bayas (berries) con pigmento antociana (rojo-azul) contienen importantes cantidades de antioxidantes y existen investigaciones en el tema.¹⁶ Entre esos se ha visto que las moras protegen a las neuronas dopaminérgicas en modelos de enfermedad de Parkinson inducidos por toxinas. Se sabe que esta enfermedad es un

desorden neurodegenerativo caracterizado por pérdida de neuronas dopaminérgicas, e involucra al stress oxidativo. Las moras son el fruto del *Morus alba* L. (Moraceae) son ingeridas normalmente y han sido utilizadas en la medicina oriental tradicional. Contienen agentes antioxidantes bien conocidos como las antocianinas. Se comprobó el efecto protector del extracto de moras (en etanol 70%) *in vivo* e *in vitro* contra la neurotoxicidad en modelos de enfermedad de Parkinson, de modo dosis dependiente. Esto es mediado por sus efectos antioxidantes y antiapoptóticos, regulando la generación de ROS y NO, las proteínas Bcl-2 y Bax, la despolarización de la membrana mitocondrial y la activación de la caspasa 3. Esto puede ser útil para prevenir y tratar la enfermedad de Parkinson.¹⁷

Una fruta muy popular en Brasil, Açaí Berry, está ganando popularidad en otros países. Su efecto antioxidante se ha explorado en población con sobrepeso, en activación de mastocitos, en disminución del dolor, en efecto en aterosclerosis en ratones, contra el enfisema, para prevenir la inducción de cáncer de esófago en ratas y en tratamientos blanqueadores de la piel entre otros.^{18,19}

Se buscaron las propiedades antiangiogénicas y antioxidantes de las principales antocianidinas del *Vaccinium myrtillus* (arándano). Se encontró efecto inhibitorio de la angiogénesis sobre el factor de crecimiento vascular (VEGF). Sus efectos antioxidantes se hallaron en concentraciones aún menores que las necesarias para el efecto antiangiogénico.²⁰ Otras variedades de arándanos han sido examinadas (*Vaccinium corymbosum* L, Bluecrop, Bluetravel, y Ozarkblue) antes y después de cocinados. Se observó que los arándanos cocidos mantuvieron o aumentaron su capacidad para captar ROS.²¹

La granada, fruto del *Punica granatum* L. también posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Tratando con extracto de granada, administrada a ratones por vía oral, se inhibe la activación del factor nuclear kappa B (NF-κB) mediada por UVB y a

los mitógenos activados por los caminos de la proteinquinasas, en los queratinocitos irradiados. Se impide el edema de la piel, la hiperplasia, la infiltración de leucocitos, la peroxidación lipídica, generación de peróxido de hidrógeno, la actividad de la ornitina descarboxilasa, la ciclo-oxigenasa y la expresión de proliferación de proteínas de antígenos nucleares. Aumentó la reparación tisular y los supresores tumorales p53 y ciclina quinase inhibidor p21. Además se inhibe la translocación nuclear de NF- κ B, la activación de IKK α , y la fosforilación y degradación de I κ B α , provocadas por UVB. Todos estos hechos muestran evidencia de que la alimentación oral con extracto de granada en ratones ofrece protección sustancial contra los efectos adversos de la radiación UVB vía modulación de biomarcadores tempranos de fotocarcinogénesis y sugieren su potencial fotoquimiopreventivo.²²

Las proantocianidinas naturales, son pigmentos que actúan como antioxidantes y se presentan ampliamente en las frutas, semillas, vegetales, flores, nueces y cortezas. Las semillas de uva, ricas en proantocianidinas, tienen un amplio espectro de actividades biológicas, farmacológicas y terapéuticas contra los radicales libres y el stress oxidativo. Numerosos reportes informan que tienen gran biodisponibilidad proveen protección contra enfermedades inducidas por los radicales libres como la injuria por isquemia y reperfusión de muchos órganos, edad avanzada, promoción tumoral y carcinogénesis.^{23,24,25} Recientemente ha sido descrito su mecanismo de acción. Se realizó un trabajo con proantocianidinas extraídas de la semilla de la uva en edema inducido de oreja de ratas y en artritis (edema de patas traseras) en ratones; para determinar el efecto y mecanismo antiinflamatorio de las proantocianidinas.²⁶ Se midió la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) y el contenido de óxido nítrico (NO), la actividad de la N-acetil- β -D-glucosaminidasa (β NAG), el contenido de manoldialdehído (MAD), IL-1 β , INF α y PGE3. Resultó que la inyección de 10-40mg/kg de proantocianidina inhibieron la artritis inducida por

carragenanos en ratones y el edema inducido por aceite de croton en ratas, de modo dosis dependiente. 10mg/kg. Redujeron el contenido de MAD, inhibieron a la β NAG y la actividad de la NOS y disminuyeron el contenido de NO, IL-1 β , INF α y PGE3, en el exudado del edema de las patas de las ratas. El efecto inhibitorio de los indicadores mencionados fue más evidente con las proantocianidinas que con 2 mg/kg de dexametasona. Este efecto inhibitorio se comprobó en ratas y ratones. Estos mecanismos de acciones antiinflamatorias son relevantes para el barrido de los ROS, la antiperoxidación lipídica y la inhibición de la formación de citoquinas inflamatorias. β NAG es liberada desde los lisosomas en el exudado inflamatorio. Su disminución demuestra un efecto protector en las membranas lisosomales inducido por las proantocianidinas.²⁶ la lipoperoxidación inducida por los ROS ha sido implicada en más de cien enfermedades. Se ha demostrado también que el NO, cuyo comportamiento es como ROS, es además un factor clave como mediador inflamatorio.²⁷ Las proantocianidinas de semillas de uvas significativamente disminuyeron la peroxidación lipídica de modo similar al demostrado *in Vitro*.²⁸ La inhibición de la lipoperoxidación y de la formación de NO es uno de los mecanismos de acción de la proantocianidinas. La inhibición de la formación de las citoquinas de la inflamación IL-1 β , INF α , sugiere que es el mayor modo en que las proantocianidinas pueden bloquear la inflamación ya que estas citoquinas interactúan luego con la lipoperoxidación, NO, PGE3 y ROS, dando origen por ejemplo a procesos inflamatorios crónicos como la artritis reumatoidea^{29,30}, pero los investigadores sugieren que el punto pivote donde actúan las proantocianidinas permanece aún desconocido.²⁶

Como conclusión, numerosos compuestos de la dieta, ubicuos en frutas, vegetales y especies, han sido aislados y evaluados durante años por su potencial terapéutico. Estos compuestos incluyen polifenoles flavonoides y no flavonoides, que describen

efectos beneficiosos en una variedad de alimentos. La noción de que estos productos tienen efectos promotores de la salud emergió porque su ingesta estaba relacionada con disminución en la incidencia de cáncer y de enfermedades cardiovasculares, neurológicas, respiratorias y relacionadas con el envejecimiento. La exposición del cuerpo a un medio ambiente estresante altera la supervivencia celular e incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas. Los polifenoles afrontan la protección contra varios tóxicos inducidos por el stress a través de la modulación de cascadas intercelulares que inhiben la síntesis de moléculas inflamatorias, la formación de radicales libres, el daño nuclear e inducen la expresión de enzimas antioxidantes. Estas respuestas tienen el potencial de incrementar la expectativa de vida. Dentro de los componentes más investigados se encuentran la curcumina, el resveratrol y los flavonoides.³¹ Los fotoquímicos naturales no sólo han ganado un reconocimiento significativo para el manejo potencial de condiciones clínicas sino que se evalúan como agentes profilácticos efectivos dado que pueden actuar sobre dianas celulares específicas y múltiples moléculas. A las plantas se las considera un recurso abundante de fitoquímicos altamente efectivos que ofrecen potencial inhibiendo el proceso de carcinogénesis a través de la sobre regulación de genes citoprotectores que codifican enzimas detoxicantes de carcinógenos y enzimas antioxidantes. Una visión hacia el mecanismo interno de la quimioprevención encierra la inducción del arresto del ciclo celular y la apoptosis o la inhibición de los caminos de las señales de transducción principalmente las quinasas proteicas activadas por mitógenos (MAPK), la proteinquinasa C (PKC), la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), la glucógeno sintetasa quinasa (GSK) que conduce a ciclo oxigenasa-2 (COX-2) anormal, el activador de la proteína 1 (AP-1), el factor nuclear-kappaB (NF-κB) y la expresión de c-myc. La efectividad de los agentes quimiopreventivos reflejan su habilidad para contrarrestar ciertas señales que conducen a daño genotóxico, desbalances de la oxido-reducción

(REDOX) y otras formas de stress celular. Apuntar a las moléculas disfuncionales a lo largo del camino de la señal de transducción en el cáncer representa una estrategia racional en quimioprevención. NF- κ B y AP-1 proveen eslabones entre la inflamación y el cáncer, y aún más regulan la angiogénesis tumoral y la invasividad, indicando que los caminos de las señales que median su activación brindan blancos atractivos para nuevos enfoques quimioterapéuticos. Entonces las cascadas de señales intercelulares y sus factores interactuantes se han transformado en hitos importantes y los fitoquímicos fenólicos y los extractos de plantas son promisorios en este esfuerzo.³²

Agradecimientos: Al Prof. Dr. Nelson Driban quien colaboró con la redacción de este artículo

Referencias bibliográficas

-
- ¹ Benzie, I. "Evolution of dietary antioxidants". Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology 2003; 136 (1): 113–26. doi:10.1016/S1095-6433(02)00368-9. PMID 14527634.
- ² Venturi, S; Donati, FM; Venturi, A; Venturi, M. "Environmental iodine deficiency: A challenge to the evolution of terrestrial life?". Thyroid : official journal of the American Thyroid Association 2000; 10 (8): 727–9. doi:10.1089/10507250050137851. PMID 11014322.
- ³ <http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=11291>
- ⁴ [Http://www.resveratrolreviewed.org/\(C\)2009 Resveratrol Reviewed](Http://www.resveratrolreviewed.org/(C)2009%20Resveratrol%20Reviewed)
- ⁵ German J. "Food processing and lipid oxidation". Adv Exp Med Biol 1999; 459: 23–50. PMID 10335367.
- ⁶ Jacob R. "Three eras of vitamin C discovery". Subcell Biochem 1996; 25: 1–16. PMID 8821966.
- ⁷ Knight J (1998). "Free radicals: their history and current status in aging and disease". Ann Clin Lab Sci 28 (6): 331–46. PMID 9846200.
- ⁸ Moreau and Dufraisie, (1922) Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie, 86, 321.
- ⁹ <http://en.wikipedia.org/wiki/Antioxidant>.
- ¹⁰ <http://www.biblioteca-tercer-milenio.com/genesis/Sumer/10-Medicina.html>
- ¹¹ Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. "Curcumin: the Indian solid gold". Adv. Exp. Med. Biol. 595: 1–75. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_1. PMID 17569205.
- ¹² Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. "Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials". Cell. Mol. Life Sci. 2008; 65 (11): 1631–52. doi:10.1007/s00018-008-7452-4. PMID 18324353

-
- ¹³ Lee HS, Lee MJ, Kim H, Choi SK, Kim JE, Moon HI, Park WH. Curcumin inhibits TNF alpha-induced lectin-like oxidised LDL receptor-1 (LOX-1) expression and suppresses the inflammatory response in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) by an antioxidant mechanism. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 2010; 25(5):720 – 729.
- ¹⁴ Tzung-Han Chou, Hsiou-Yu Ding, Rong-Jyh Lin, Jing-Yao Liang, and Chia-Hua Liang. Inhibition of Melanogenesis and Oxidation by Protocatechuic Acid from *Origanum vulgare*(Oregano) *J. Nat. Prod.* 2010; 73 (11): 1767–1774.
- ¹⁵ Rimbach G, Gohil K, Matsugo S, Moini H, Saliou C, Virgili F, Weber SU, Packer L. Induction of glutathione synthesis in human keratinocytes by Ginkgo biloba extract (EGb761). *Biofactors* 2001;15 (1):39-52.
- ¹⁶ Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis Gr. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry* 2007;102: 777-783.
- ¹⁷ Kim H; Ju M; Shim J; Kim M; Lee S; Huh Y; Kim S.; Oh M. Mulberry fruit protects dopaminergic neurons in toxin-induced Parkinson's disease models. *British Journal of Nutrition* 2010; 104(1):8 16.
- ¹⁸ Stoner GD, Wang LS, Seguin C, Rocha C, Stoner K, Chiu S, Kinghorn AD. Multiple berry types prevent N-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in rats. *Pharm Res.* 2010; 27(6):1138-45. Epub 2010 Mar 16. Erratum in: *Pharm Res.* 2010; 27(9):2031.
- ¹⁹ Fowler JF Jr, Woolery-Lloyd H, Waldorf H, Saini R. Innovations in natural ingredients and their use in skin care. *J Drugs Dermatol.* 2010; 9 (6 Suppl):S72-81; quiz s82-3.

-
- ²⁰ Matsunaga N, Tsuruma K, Shimazawa M, Yokota S, Hara H. Inhibitory Actions of Bilberry Anthocyanidins on Angiogenesis. *Phytotherapy Research* 2010; 24 (Suppl.1): S42 S47.
- ²¹ Oliveira C, Amaro LF, Pinho O and Ferreira I. Cooked Blueberries: Anthocyanin and Anthocyanidin Degradation and Their Radical-Scavenging Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58(16):9006 9012.
- ²² Afaq F, Khan N, Syed DN, Mukhtar H. Oral feeding of pomegranate fruit extract inhibits early biomarkers of UVB radiation-induced carcinogenesis in SKH-1 hairless mouse epidermis. *Photochem Photobiol* 2010; 86 (6):1318-26.
- ²³ Shao ZH, Qin YM, Becker LB, Hoek TL, Li CQ, Schumacher PT, et al. Grape seeds proanthocyanidins reduce oxidant stress in cardiomyocytes. *Acad. Emerg Med* 2001; 8: 526.
- ²⁴ Yc X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, Mc Ginn TR, et al. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem* 1999; 196: 99-108.
- ²⁵ Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK, Cardioprotective effects of grape seeds proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1289-97.
- ²⁶ Li WG, Zhang XY, Wu YJ, Tian X. Anti.inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds. *Acta Pharmacol* 2001; 22 (12):1117-1120.
- ²⁷ Salvemini D, Wang ZQ, Wyatt Ps, Bourdon DM, et al. Nitric Oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan induced rat paw inflammation. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 829-38.

-
- ²⁸ Zhang XL, Gao MT, Li WG, et al. The antilipoperoxidative effect of GSE in vitro. In Zheng RL editor. *Advances in free radical life sciences*, V7 Beijing. Atomic Energy publishing House 1999:116-20.
- ²⁹ B rady TC, Chang LY, Day BJ, Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappaB activation. *Am J Physiol* 1997;273:L102-6.
- ³⁰ ChiouGCY, Liu SXL. Systemic antiinflammation by synthetic interleukin-1 blockers. *Acta Pharmacol Sin* 1999; 20: 405-8.
- ³¹ Kavita Bishta, Karl-Heinz Wagnerb, Andrew C. Bulmer. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto- and DNA-protective dietary compounds. *Toxicology* 2010; 278 88–100.
- ³² Vidushi S. Neergheen, Theeshan Bahorun, Ethan Will Taylor, Ling-Sun Jend, Okezie I. Aruoma Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology* 2010; 278: 229–241.